

بررسی اثرات تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول بر جوانه‌زنی و خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.)

زهرا خاکشور مقدم^{۱*} - مهرداد لاهوتی^۲ - علی گنجعلی^۳

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۱۹

تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۱/۱۲

چکیده

به منظور بررسی واکنش گیاه دارویی شوید به تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول در مراحل جوانه زنی و رشد رویشی دو آزمایش جداگانه هر یک به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. در آزمایش اول واکنش جوانه‌زنی بذرهای شوید به سطوح مختلف تنش خشکی شامل پتانسیل‌های اسمزی صفر (شاهد)، -۱/۵، -۲، -۲/۵ و -۳ بار که با استفاده از PEG6000 تهیه شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش دوم مشابه آزمایش اول بود، با این تفاوت که در این آزمایش صفات مورفوفیزیولوژیک گیاه شوید که در سطوح مختلف تنش خشکی قرار گرفته بودند، مورد مطالعه و تجزیه آماری قرار گرفتند. نتایج آنالیز واریانس مشاهدات نشان داد که تنش خشکی تاثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر خصوصیات جوانه‌زنی شامل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه، و نسبت وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه داشت. مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که با افزایش تنش خشکی کلیه صفات فوق کاهش یافتند. صفات مورفولوژیکی مانند سطح برگ، وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه و نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه تحت تاثیر خشکی کاهش یافتند. همچنین تنش خشکی تاثیر معنی‌داری بر میزان پرولین و قندهای محلول بخش هوایی و ریشه داشت ($p \leq 0.01$). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که با افزایش تنش، میزان پرولین و قندهای محلول بخش هوایی و ریشه و همچنین نسبت پرولین و قندهای محلول بخش هوایی به ریشه افزایش یافت. در این آزمایش نسبت پرولین و قندهای محلول بخش هوایی به ریشه تحت تاثیر تنش خشکی قرار نگرفتند ($p \leq 0.05$).

واژه های کلیدی: PEG، صفات مورفولوژیکی، پرولین، قندهای محلول

مقدمه

زیادی دارد (۵). جوانه‌زنی شامل فرآیندهای مربوط به انتقال مواد ذخیره‌ای به محور جنین و شروع فعالیت‌های متابولیک و رشد آن است. این مرحله از چرخه زندگی گیاهان نقش تعیین کننده‌ای در استقرار مناسب گیاه و عملکرد نهایی آن دارد زیرا جوانه‌زنی بذر یکی از آسیب‌پذیرترین و بحرانی‌ترین مراحل در چرخه زندگی گیاهان می باشد (۱۳).

در سراسر دنیا یکی از مهم ترین عوامل غیر زیستی و محدود کننده جوانه زنی و همچنین رشد اولیه گیاهچه‌ها، تنش خشکی است (۲۲). قابلیت دسترسی به آب و جذب آن توسط بذر، برای انجام فرآیندهای جوانه زنی و متعاقب آن رشد گیاهچه‌ها ضروری است. یکی از پیامدهای رایج ناشی از تنش خشکی، کاهش پتانسیل آب در بستر بذر می‌باشد. پتانسیل منفی بالای آب خصوصاً در مراحل اولیه جوانه زنی، منجر به کاهش جذب آب توسط دانه و مانع تداوم فرآیندهای مربوط به جوانه‌زنی می شود (۱۳). افزایش تنش خشکی

خشکی یک رویداد هواشناختی است که به دلیل عدم وقوع بارندگی در یک دوره زمانی اتفاق می‌افتد. با وقوع تنش خشکی، آب قابل دسترس خاک کاهش یافته ولی تلفات آب از طریق تبخیر و تعرق بطور مداوم افزایش می‌یابد (۲۱). با وجود پیشرفتهای زیاد تکنولوژی و مدیریت زراعی هنوز جوانه زنی و رشد اولیه بذر در کشاورزی از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. در زراعت، موفقیت یا عدم موفقیت تولید به جوانه زدن کامل و سریع بذرها و تولید گیاهچه‌های قوی وابسته است. بنابراین درک مناسب از رفتار جوانه‌زنی در شرایط مختلف محیطی در راستای افزایش محصول اهمیت

۱، ۲، ۳- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استاد و استادیار گروه زیست

شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

(* - نویسنده مسئول: Email: zahrakhakshoor@yahoo.com)

ذخیره کربن و نیتروژن، جاروب کردن^۱ رادیکال‌های آزاد و عمل آنتی‌اکسیدانی نقش دارد (۹). تجمع پرولین در گیاهان بوسیله دو مسیر بیولوژیکی، مسیر وابسته به گلوتامات^۲ و مسیر وابسته به اورنی‌تین^۳ انجام می‌شود. ظاهراً مسیر وابسته به گلوتامات در شرایط تنش خشکی، مسیر غالب می‌باشد. اهمیت نسبی مسیر اورنی‌تین در گیاهان تیمار شده با تنش، بستگی به نوع گونه، نوع اندام و مرحله تکاملی گیاه دارد (۹).

یکی دیگر از اسمولیت‌های سازگار، قندهای محلول می‌باشد که در شرایط خشکی تجمع یافته و به عنوان عوامل حفاظتی در گیاهان عمل می‌کنند. در شرایط تنش، قندها از سلول‌ها از طریق تنظیم اسمزی و نگهداری تورژسانس و همچنین پایداری غشاها و پروتئین‌ها محافظت می‌کنند. قندها در طول آبدابی سلول‌ها با شیشه‌ای شدن سیتوپلاسم سبب تحمل گیاهان به خشکی می‌شود (۹). در برخی از منابع گزارش شده است که در اثر تنش خشکی میزان نشاسته کاهش ولی قندهای محلول افزایش می‌یابد (۲۹). افزایش قندهای محلول در سلول‌های گیاهی سبب کاهش پتانسیل اسمزی و متعاقباً پتانسیل آبی شده و جذب آب به درون سلول‌ها را آسان می‌نماید (۲۹).

با توجه به اهمیت گیاه شوید در سید مصرف خانوار و نظر به کمبود آب آبیاری و نزولات در کشور، بررسی واکنش این گیاه به سطوح مختلف تنش خشکی حائز اهمیت است. بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی واکنش گیاه شوید به سطوح مختلف تنش خشکی در دو مرحله جوانه‌زنی و رشد رویشی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثرات تنش خشکی بر مرحله جوانه‌زنی و رویشی شوید، دو آزمایش جداگانه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد.

در آزمایش اول، سطوح مختلف خشکی شامل صفر، ۱/۵-، ۲-، ۲/۵-، ۳- بار بوسیله پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ مطابق روش میچل و کافمن (۲۶) تهیه شد. جهت ایجاد پتانسیل صفر بار (شاهد) از آب مقطر استفاده شد و برای ایجاد سایر سطوح تنش خشکی مقادیر معینی از پلی اتیلن گلیکول مطابق روش میچل و کافمن تهیه و در آب حل شد. بذور ابتدا با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۴۵ ثانیه ضدعفونی و سپس دو بار با آب مقطر استریل، شستشو داده شدند. برای کشت بذرها از ظروف پتری با ابعاد ۸۰×۸۰ میلی‌متر که کف آنها توسط کاغذ صافی پوشیده شده بود، استفاده شد. به هر ظرف ۷ سانتی‌متر مکعب از محلول مورد نظر (برای تیمار شاهد ۷ سانتی‌متر

قابلیت دسترسی به آب را کاهش داده و اثرات نامطلوبی بر درصد وسرعت جوانه‌زنی و همچنین رشد گیاهچه‌ها خواهد داشت (۲۲).

رضازاده و کوچکی (۴) در آزمایش خود بر جوانه‌زنی بذرهای زنیان، رازیانه و شوید مشاهده کردند که با اعمال تنش خشکی و شوری در دماهای مختلف، درصد و سرعت جوانه‌زنی و همچنین طول ریشه‌چه و ساقه‌چه تمامی گونه‌ها کاهش یافت، بطوریکه در میان بذرها، بذر شوید کمترین مقاومت را نسبت به تغییرات دما و پتانسیل اسمزی نشان داد.

در شرایط تنش خشکی، به دلیل بسته شدن روزنه‌ها در طول دوره تنش و تغییر کارایی مصرف آب، ماده خشک تولیدی گیاه کاهش می‌یابد. گیاهان در مواجهه با تنش خشکی واکنش‌هایی نشان می‌دهند که بسته به شدت تنش، طول مدت تنش، ژنوتیپ، سن و مرحله نمو گیاه در زمان وقوع تنش متفاوت است. بنابراین گونه‌های مختلف گیاهی دامنه وسیعی از مکانیزم‌های مقاومت به خشکی را نشان می‌دهند که منجر به ایجاد سازگاری‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌گردد. یکی از پاسخ‌های مهم گیاه به تنش خشکی، کاهش سطح برگ است (۱۱). کاهش سطح برگ می‌تواند ناشی از کاهش تقسیم سلولی و همچنین ریزش و پیری برگ باشد (۱۱).

تنظیم اسمزی به عنوان جزئی مهم از مکانیزم‌های تحمل به خشکی در گیاهان مطرح است (۳۰). گیاهان در شرایط متفاوت محیطی، مواد محلول با وزن مولکولی کم که بطور کلی مواد محلول سازگار نامیده می‌شوند را سنتز می‌نمایند. این مواد حل‌شونده سازگار شامل اسیدهای آمینه (پرولین، گلايسين)، قندها (ساکارز، گلوکز)، الکل‌های قندی (مانیتول، سوربیتول)، یون‌ها، اسیدهای آلی، آمیدها، آمین‌ها و گروه‌های بتائین می‌باشند که در پاسخ به تنش خشکی سنتز شده و با واکنش‌های عادی بیوشیمیایی سلول تداخل ندارند. تجمع این مواد سبب کاهش پتانسیل آب اندام‌های گیاهی و متعاقباً ایجاد شیب پتانسیل آب نسبت به محیط خارج شده که در چنین حالتی جذب آب توسط گیاه امکان‌پذیر می‌گردد (۳۰).

پرولین یکی از اسیدآمینه‌های فعال در پدیده تنظیم اسمزی است که در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش به‌سزایی دارد. اگرچه پرولین در همه اندام‌های گیاه در طی تنش تجمع می‌یابد ولی سریع‌ترین انباشت را در برگ‌ها دارد. تجمع پرولین در ریشه‌ها با تأخیر زمانی نسبت به تجمع در برگ‌ها صورت می‌گیرد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که افزایش پرولین در ریشه‌ها ناشی از انتقال آن از برگ‌ها می‌باشد (۲). نقش‌های فیزیولوژیکی متعددی برای افزایش پرولین در اثر تنش خشکی مطرح شده است. از جمله پرولین در تنظیم فشار اسمزی، حفاظت از مولکول‌های پروتئینی و یکپارچگی غشای سلولی،

- 1 -scavenging
- 2 -glutamate-dependent pathway
- 3 -ornithine-dependent pathway

حلقه‌های پلاستیکی و پنبه استفاده گردید. اکسیژن لازم برای تنفس ریشه‌ها از طریق پمپ‌های که بدین منظور طراحی شده بودند، استفاده شد. گیاهچه‌ها در فیتوترون با دمای 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ و ۸ ساعت به ترتیب روشنایی و تاریکی رشد نمودند. گیاهچه‌ها پس از یکماه از گلدان‌ها خارج و خصوصیات مورفولوژیکی مانند سطح برگ، وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه و نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه اندازه‌گیری شد. برای این منظور قسمت‌های مختلف گیاه (ریشه، ساقه و برگ) از یکدیگر تفکیک شد. سطح سبز گیاه توسط دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ و وزن تر ریشه و اندام هوایی، با ترازوی دیجیتال با دقت 0.001 گرم اندازه‌گیری شد. به منظور تعیین وزن خشک ریشه و بخش هوایی اندام‌های فوق به مدت ۲۴ ساعت در دمای 70 درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند و سپس وزن خشک آن‌ها به صورت جداگانه تعیین شد. در این مرحله متغیرهایی مانند پرولین و قندهای محلول اندازه‌گیری شدند.

استخراج و اندازه‌گیری مقدار پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس و همکاران (۱۰) استفاده شد. ابتدا 0.5 گرم از هر بافت (اندام هوایی، ریشه) برداشت گردید. سپس بافت گیاهی در هاون چینی کاملاً سائیده شد. بعد از این مرحله 10 میلی‌لیتر اسید سولفوریک آبدار 3 درصد به آن اضافه و محتوی هاون بهم زده شد و در نهایت با کاغذ صافی صاف گردید. به 2 میلی‌لیتر از محلول حاصل، 2 میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین (125 میلی-گرم ناین‌هیدرین + 20 میلی‌لیتر اسید فسفریک 6 مولار + 30 میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال) اضافه شد و به مدت یک ساعت در حمام آب جوش در دمای 100 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس لوله‌های محتوی محلول حاصل در یخ قرار گرفت تا سرد شدند. پس از ایجاد تعادل با دمای محیط به لوله‌ها 4 میلی‌لیتر تولونن اضافه گردید و به مدت 30 ثانیه به شدت هم زده شد. استانداردهای پرولین در مقادیر $5.4, 3.2, 1$ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه گردید و نمونه‌های حاصل و استانداردها در طول موج 520 نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. با استفاده از رسم منحنی استاندارد مقدار پرولین برحسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه شد.

استخراج و اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول

برای اندازه‌گیری قندهای محلول از روش دوبویس استفاده شد (۱۸). برای این منظور 0.2 گرم بافت خشک شده گیاه توسط 3 میلی‌لیتر الکل 80 درصد در هاون چینی کاملاً سائیده شد. سپس همگنای حاصل به مدت 15 دقیقه در 5000 دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد و از محلول روشن‌رنگ برای سنجش قندهای محلول استفاده شد.

مکعب آب مقطر) اضافه گردید. برای هر تیمار خشکی سه پتری در نظر گرفته شد که هر پتری به عنوان یک واحد آزمایشی منظور شد. در داخل پتری 40 عدد بذر بر روی کاغذ صافی کشت شدند. برای جلوگیری از تبخیر از سطح ظروف، درب ظرف‌ها بطور کامل با پارافیلیم پوشیده شدند. در طول مدت آزمایش، روزانه ظروف بازبینی و تعداد بذره‌های جوانه زده شمارش شدند. بذرهایی که طول ریشه‌چه آن 2 یا بیشتر از 2 میلی‌متر بودند، به عنوان بذره‌های شمارش شده ثبت شدند. در پایان آزمایش درصد جوانه زنی بذرها از طریق معادله ۱ تعیین شد. در ادامه این مرحله از هر ظرف 15 گیاهچه به تصادفی انتخاب و صفات مورفولوژیکی شامل طول ساقه چه و ریشه چه آنها با استفاده از خط کش میلی‌متری تعیین شد. به منظور تعیین وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه، اندام‌های فوق به مدت 24 ساعت در دمای 80 درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند. در پایان آزمایش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه و نسبت وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه برای هر تیمار اندازه‌گیری و نتایج آن ثبت شد. درصد جوانه زنی بذرها از فرمول زیر محاسبه شد:

$$PG = \frac{n_i}{N} \times 100 \quad (1)$$

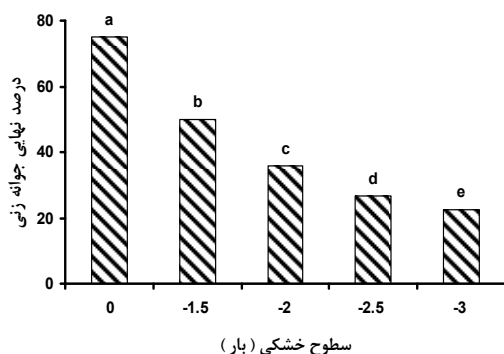
در این معادله، PG؛ درصد جوانه زنی، n_i ؛ تعداد بذره‌های جوانه زده تا روز i ام و N ؛ تعداد کل بذرها می باشد (۴). برای محاسبه سرعت جوانه زنی از رابطه زیر استفاده شد.

$$R_s = \sum_{i=1}^n \frac{S_i}{D_i}$$

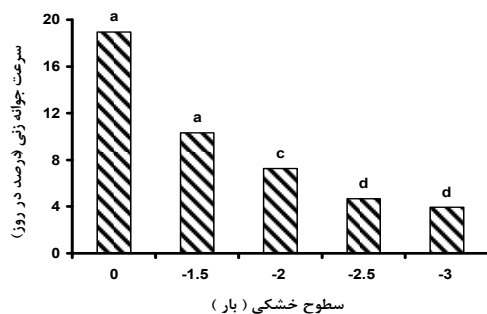
در این معادله، R_s ؛ سرعت جوانه زنی، S_i ؛ تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز و D ؛ تعداد روزهای سپری شده از شروع آزمایش می باشد (۴). در آزمایش دوم، بذرها پس از ضد عفونی در سینی‌های پلاستیکی در محیط تاریک کشت شدند. وقتی گیاهچه‌ها به مرحله دو برگه رسیدند، سینی‌ها به شرایط نوری منتقل شدند. به منظور ایجاد تطابق، گیاهچه‌ها برای مدت 2 الی 3 روز در روشنایی نگاه داشته شدند. هر واحد آزمایشی در این مرحله از یک ظرف پلاستیکی به حجم 1000 میلی‌لیتر که حاوی محلول غذایی هوگلند^۱ بود، تشکیل شد. سطوح مختلف تنش خشکی (مشابه آزمایش جوانه‌زنی) با استفاده از پلی اتیلن گلابکول 6000 در هر یک از ظرفها ایجاد شد. 7 عدد گیاهچه تقریباً هم‌اندازه و سالم انتخاب و به ظرف‌های حاوی محلول غذایی و پلی اتیلن گلابکول 6000 انتقال یافتند. ظروف از جنس پلی اتیلن (پلاستیک) انتخاب شدند که برای استقرار گیاهچه‌ها از

۱- محلول هوگلند شامل ترکیبات $MgSO_4$ ، KNO_3 ، $Ca(NO_3)_2$ ، $Fe-EDTA$ ، KH_2PO_4 و عناصر میکرو فاقد آهن ($MnCl_2$ ، H_3BO_3)، H_2MoO_4 ، $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ، $CuSO_4 \cdot 4H_2O$ میباشد.

غیر طبیعی، عدم وجود حداقل انرژی مورد نیاز برای شروع فرآیندهای مربوط به جوانه زنی است.



شکل ۱- نمودار میانگین درصد جوانه زنی در سطوح مختلف تنش خشکی



شکل ۲- نمودار میانگین سرعت جوانه زنی در سطوح مختلف تنش خشکی

نتایج مربوط به میانگین طول ساقچه نشان داد که این صفت تحت تاثیر تنش خشکی قرار می گیرد. در این آزمایش با کاهش پتانسیل آب، طول ساقچه کاهش یافت (شکل ۳). بیشترین طول ساقچه به پتانسیل آب صفر (۳۷ میلی متر) و کمترین طول ساقچه به پتانسیل -۳ بار (۱۱/۷ میلی متر) تعلق داشت. به نظر می رسد یکی از دلایل کاهش طول ساقچه در شرایط تنش، کاهش یا عدم انتقال مواد غذایی از لپه ها به جنین باشد (۳۴). ماکار و همکاران (۲۴) در بررسی اثر تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول بر جوانه زنی و رشد گیاهچه های نخود (*Cicer arietinum* L.) دریافتند که با افزایش پتانسیل آب طول ساقچه و ریشه چه بصورت معنی داری کاهش می یابد.

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که تنش خشکی تاثیر معنی داری بر طول ریشه چه داشت، بطوریکه با کاهش پتانسیل آب طول ریشه چه کاهش داشت (شکل ۴). با افزایش تنش از صفر به -۳

بدین ترتیب که یک میلی لیتر از عصاره حاوی کربوهیدراتهای محلول در لوله آزمایش ریخته و به آن یک میلی لیتر محلول ۵ درصد فنل (۵ گرم فنل در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) افزوده و به خوبی هم زده شدند (نمونه ها به نسبت ۱:۲ یا ۱:۴ رقیق شدند). در مرحله نهایی، ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ به هر لوله اضافه شد و عمل مخلوط سازی به شدت انجام گردید. لوله ها به مدت نیم ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند و مقادیر جذب نوری آنها در طول موج ۴۸۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. محلول های استاندارد گلوکز با غلظت های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ میلی گرم در لیتر تهیه شد. با استفاده از رسم منحنی استاندارد، مقدار قند بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم بافت خشک گیاه محاسبه شد.

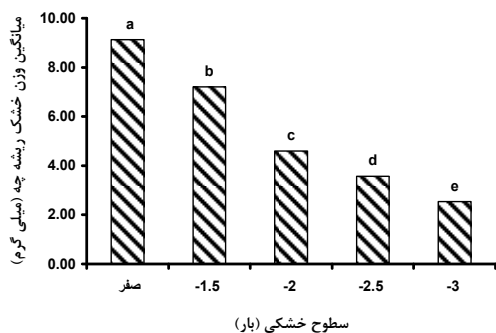
برای آنالیز واریانس مشاهدات حاصل از هر دو آزمایش از نرم افزارهای آماری MSTAT-C و JMP، برای مقایسه میانگین ها از آزمون چند دامنه ای دانکن و برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد. تجزیه واریانس داده هایی که به صورت درصد بودند، پس از تبدیل زاویه انجام شد.

نتایج و بحث

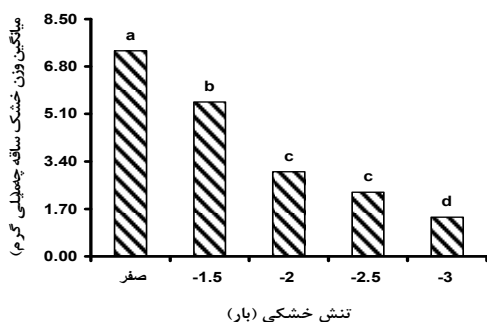
نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که تنش خشکی تاثیر معنی داری بر درصد جوانه زنی داشت. با کاهش پتانسیل آب و افزایش سطوح خشکی، درصد جوانه زنی کاهش یافت. در این رابطه پتانسیل صفر بار بیشترین درصد جوانه زنی و پتانسیل -۳ بار کمترین درصد جوانه زنی را دارا بودند (شکل ۱). درصد جوانه زنی در پتانسیل -۳ بار نسبت به شاهد، ۴۵/۳ درصد کاهش داشت. تبه و همکاران (۳۵) بیان نمودند که دانه ها برای انجام فرآیند جوانه زنی، بایستی به اندازه کافی آب جذب نمایند، مواد محلول موجود در محیط کشت از جمله PEG سبب کاهش جذب آب توسط دانه و متعاقب آن تاخیر و یا توقف جوانه زنی می شوند. تنش خشکی و محدودیت جذب آب توسط دانه، از طریق تاثیر بر انتقال ذخایر دانه و سنتز پروتئین ها در جنین احتمالا علت اصلی کاهش میزان جوانه زنی است (۱۷).

نتایج مشاهدات مربوط به سرعت جوانه زنی موید این است که تنش خشکی تاثیر معنی داری بر سرعت جوانه زنی دارد. مقایسه میانگین سطوح مختلف تنش خشکی حاکی از کاهش سرعت جوانه زنی با کاهش پتانسیل آب است (شکل ۲). میزان کاهش سرعت جوانه زنی در پتانسیل -۳ بار نسبت به شاهد ۷۹/۲ درصد است. چنانچه جذب آب توسط بذر دچار اختلال گردد و یا جذب به آرامی صورت گیرد، فعالیت های متابولیکی جوانه زنی در داخل بذر به آرامی انجام خواهد شد و در نتیجه مدت زمان خروج ریشه چه از بذر افزایش و لذا سرعت جوانه زنی کاهش می یابد (۱۶). مایر و پولجاکوف (۲۵) بیان نمودند که علت کاهش سرعت جوانه زنی و ایجاد گیاهچه های

تحرک مواد ذخیره‌ای در دانه و انتقال آن‌ها از لپه به محور رویانی است.



شکل ۵- نمودار میانگین وزن خشک ساقه‌چه در سطوح مختلف تنش خشکی

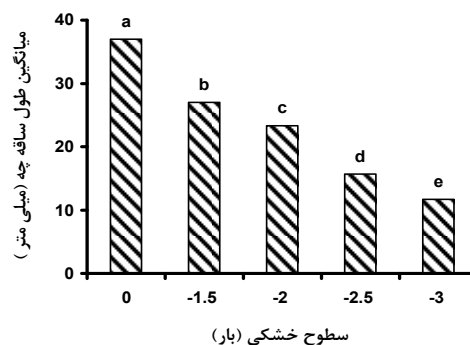


شکل ۶- نمودار میانگین وزن خشک ریشه‌چه در سطوح مختلف تنش خشکی

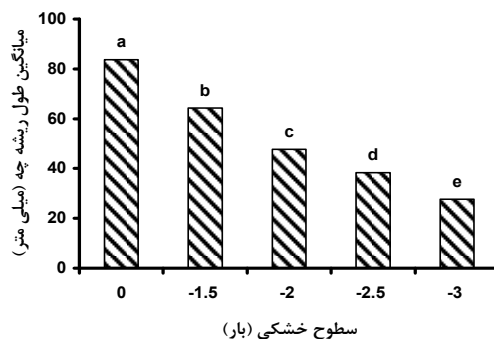
نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر نسبت وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه داشت، بطوریکه با افزایش تنش خشکی، نسبت وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه کاهش یافت (شکل ۷). یان جانگ زنگ و همکاران (۳۷) گزارش کردند که کاهش رشد ساقه‌چه و از طرفی افزایش رشد ریشه‌چه گیاهچه‌های مناطق بیابانی، به دلیل کاهش تعرق و نفوذ ریشه‌چه به اعماق خاک برای دستیابی به منابع عمیق آبی و متعاقباً افزایش بقای گیاهچه است.

نتایج مشاهدات مربوط به وزن تر و خشک بخش هوایی موید این است که تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر این دو صفت دارد. مقایسه میانگین وزن تر و خشک بخش هوایی نشان داد که با کاهش پتانسیل آب و افزایش سطوح خشکی میزان این دو صفت کاهش یافت (جدول ۱). کاهش وزن تر و خشک بخش هوایی به ترتیب ۷۶ و ۷۰/۳ درصد بود (جدول ۱).

بار، میانگین طول ریشه‌چه از ۸۳/۷ به ۲۷/۷ میلی‌متر رسید. در شرایط تنش خشکی کاهش جذب آب توسط بذر، باعث کاهش سرعت فعالیت‌های متابولیکی بذر، کاهش ترشح هورمون‌ها و فعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه اختلال در رشد گیاهچه (ریشه‌چه و ساقه‌چه) شده است (۶). نتایج مشابهی توسط سایر محققان نیز گزارش شده است (۳، ۴ و ۵). به این ترتیب که خالص‌رو و آقا علیخانی (۳) در بررسی اثر تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های بذرهای سورگوم علوفه‌ای و ارزن مرواریدی مشاهده نمودند که با افزایش تنش از ۰/۴- مگاپاسکال به بالا طول ریشه‌چه بطور معنی‌داری کاهش می‌یابد.



شکل ۳- نمودار میانگین طول ساقه‌چه در سطوح مختلف تنش خشکی



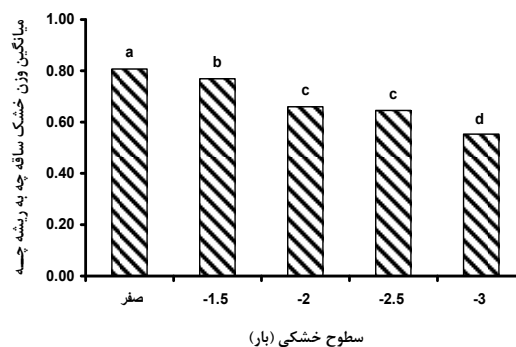
شکل ۴- نمودار میانگین طول ریشه‌چه در سطوح مختلف تنش خشکی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه، تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت، بطوریکه با کاهش پتانسیل آب، هر دوی این صفات کاهش یافتند (شکل های ۵ و ۶). کاهش وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه در شرایط تنش خشکی در سایر بررسی‌ها نیز گزارش شده است (۷ و ۱۶). سلطانی و گالشی (۳۳) بیان نمودند که دلیل کاهش وزن گیاهچه گندم، کاهش قدرت

خورانا و سینگ (۲۳) نشان دادند که ارتباط مثبتی میان سطح برگ و سرعت رشد نسبی وجود دارد، بطوریکه با کاهش سطح برگ، سرعت رشد نسبی نیز کاهش می یابد. این محققان گزارش کردند که کاهش سطح برگ در اثر افزایش تنش خشکی، نشان دهنده توانایی یک گونه برای مقاومت و سازش در برابر خشکی است. کاهش سطح برگ، به معنای کاهش اتلاف آب و تعرق است. احتمالاً کاهش سطح برگ به دلیل کاهش محتوای نسبی آب برگ و متعاقب آن کوچک شدن اندازه سلول ها، کاهش تقسیم سلول های مرستمی و در نتیجه کند شدن رشد برگ، توقف تولید برگ، تسریع پیری و متعاقب آن ریزش برگ ها می باشد (۲۰).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های آزمایشی نشان داد که تنش خشکی تاثیر معنی داری بر میزان پرولین بخش هوایی و ریشه داشت. مقایسه میانگین سطوح مختلف تنش خشکی نشان داد که با کاهش پتانسیل آب، پرولین بخش هوایی و ریشه افزایش یافت (جدول ۲). افزایش میزان پرولین در پتانسیل ۳- بار نسبت به شاهد در مورد بخش هوایی ۸۳/۶ درصد و در مورد ریشه ۸۳ درصد بود. افزایش میزان پرولین در سایر بررسی ها نیز گزارش شده است (۱۹ و ۳۲). اسلاما و همکاران (۳۲) اظهار داشتند که میزان پرولین گیاه علف فرشیان (*Sesuvium portulacastrum*) تحت تاثیر تنش خشکی نسبت به شاهد سه برابر افزایش یافت. علت این موضوع تحریک فعالیت آنزیم بیوسنتزی پرولین (اورنی تین امگا- آمینوترانسفراز) و مهار آنزیم کاتابولیکی (پرولین دهیدروناز) پیشنهاد شده است. ورسلوئس و همکاران (۳۶) دریافتند که تنش خشکی سبب افزایش نسخه برداری mRNA. ژن کد کننده آنزیم های مسیر بیوسنتز پرولین (Δ^1 - پیروولین-۵- کربوکسیلات سنتاز (P5C5) و دلتا پرولین ۵- کربوکسیلات ردوکتاز (P5CR)) و در نهایت افزایش میزان پرولین می شود. بررسی ها موید این است که سه عامل مهم شامل ۱- تحریک سنتز؛ ۲- مهار تجزیه؛ و ۳- جلوگیری از ورود پرولین به درون پروتئین ها در تجمع پرولین در شرایط تنش خشکی مطرح هستند (۸). تفاوت های معنی داری میان سطوح مختلف تنش خشکی از نظر نسبت پرولین بخش هوایی به ریشه، وجود نداشت. کمترین میزان نسبت پرولین بخش هوایی به ریشه در تیمار شاهد و بیشترین مقدار آن در پتانسیل ۳- بار مشاهده شد (جدول ۲).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که مقدار قندهای محلول موجود در بخش هوایی و ریشه تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفتند. بطور کلی با افزایش تنش خشکی، قندهای محلول بخش هوایی و ریشه افزایش یافت (جدول ۲). باهرنیک و همکاران (۱) با مطالعه تاثیر تنش خشکی بر میزان کربوهیدرات های محلول گیاه وایول (*Parthenium argentatum Gray.*) مشاهده کردند که خشکی سبب افزایش میزان قندهای محلول در گیاه شد،



شکل ۷- نمودار میانگین نسبت وزن خشک ساقه چه به ریشه چه در سطوح مختلف تنش خشکی

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که تنش خشکی تاثیر معنی داری بر وزن تر و خشک ریشه داشت، بطوریکه در پتانسیل ۳- بار کاهش وزن تر و خشک ریشه به ترتیب ۶۵/۱ و ۵۲/۴ درصد بود (جدول ۱).

به نظر می رسد کاهش وزن تر در گیاهان تیمار شده با خشکی، به دلیل جلوگیری از توسعه و رشد سلولی ناشی از کاهش فشار تورگر باشد (۳۱). کاهش وزن ماده خشک به دلیل کاهش رشد گیاهی، بسته شدن روزنه ها و متعاقب آن کاهش فتوسنتز و پیری و ریزش برگ ها است (۱۲).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که تغییرات نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفت. به طور کلی با افزایش تنش خشکی نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه کاهش یافت (جدول ۱). نتایج حاصل از بررسی انتقال مواد فتوسنتزی در یونجه حاکی از آن است که اختصاص کربوهیدراتها به ریشه و برگ ها نسبت به ساقه اولویت دارد و به همین دلیل وزن ماده خشک ساقه به نسبت بیشتری کاهش می یابد. برگ ها و ریشه ها از نظر فتوسنتز و جذب آب اهمیت بیشتری برای گیاه دارند و نسبت به ساقه بیشتر محافظت می شوند (۲۷). بورسالم (۱۴) گزارش کرد که افزایش بیوماس ریشه های جانبی در محیط خشک باعث افزایش سطح ریشه به منظور جذب بیشتر آب می شود و بدین طریق گیاهان را در برابر خشکی مقاوم می سازد، به خصوص زمانی که این افزایش در حجم ریشه با کاهش سطح برگ همراه باشد.

نتایج مشاهدات مربوط به سطح برگ نشان داد که با افزایش تنش خشکی، سطح برگ به صورت معنی داری کاهش یافت، بطوریکه کاهش سطح برگ در پتانسیل ۳- بار نسبت به شاهد به میزان ۸۵/۵ درصد بود (جدول ۱). کابوسلی و همکاران (۱۵) گزارش نمودند کاهش سطح برگ در گیاه برنج، راهبردی برای بهبود تحمل به خشکی است.

در این آزمایش تفاوت‌های معنی‌داری میان سطوح مختلف تنش خشکی از نظر نسبت قند بخش هوایی به ریشه وجود نداشت. در این ارتباط با افزایش تنش خشکی نسبت فوق افزایش یافت (جدول ۲). احتمالاً دلیل افزایش سطوح کربوهیدرات‌های محلول در بخش هوایی گیاه به خصوص برگ‌ها، کاهش سرعت انتقال (صادرات) مواد می‌باشد، چون تنش خشکی در طول مراحل رویشی و تولید مثلی گیاهان سبب تغییراتی در بافت آوند آبکش شده و در نتیجه کاهش انتقال قندها به دیگر اندام‌ها را به دنبال دارد (۲۸).

بطوریکه میزان قند در محدوده رطوبتی ظرفیت زراعی، ۱/۰۷ گرم بر گرم وزن تر بود، در حالیکه با کاهش میزان آبیاری تا حد ۱/۴ ظرفیت زراعی به ۲/۹ گرم بر گرم وزن تر افزایش یافت. محققان افزایش قندهای محلول را در گیاهان مواجه با تنش خشکی به این‌صورت عنوان کردند، ۱- افزایش تجزیه کربوهیدرات‌های نامحلول و در نتیجه بالا رفتن سطوح قندهای محلول؛ ۲- سنتز مواد اسمتیک از مسیرهای غیر فتوسنتزی؛ ۳- توقف رشد؛ ۴- کاهش سرعت انتقال (صادرات) مواد و ۵- افزایش سنتز ساکارز به دلیل فعالسازی آنزیم ساکارز فسفات سنتاز (۸، ۲۸ و ۲۹).

جدول ۱- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه تحت تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی ناشی از PEG در شرایط آبکشت

پتانسیل (بار)	وزن تر بخش هوایی (گرم/گیاه)	وزن تر ریشه (گرم/گیاه)	وزن خشک بخش هوایی (میلی گرم/گیاه)	وزن خشک ریشه (میلی گرم/گیاه)	نسبت وزن خشک بخش هوایی به ریشه	سطح برگ (سانتیمتر مربع/گیاه)
صفر	۰/۶۲۵ a	۰/۲۶۱ a	۷۴/۸ a	۱۶/۸ a	۴/۴۷۴ a	۱۱۹۴/۱ a
-۱/۵	۰/۴۵۵ b	۰/۱۹۷ b	۴۷/۳ b	۱۳/۵ b	۳/۵۱۵ b	۷۸۶/۷ b
-۲	۰/۲۹۶ c	۰/۱۶۷ b	۳۶/۲ c	۱۱/۹ b	۳/۰۴۱ b	۵۴۹/۱ c
-۲/۵	۰/۱۸۶ cd	۰/۱۰۸ c	۲۸/۴ d	۱۰/۱ c	۲/۸۲۱ b	۳۹۸/۹ d
-۳	۰/۱۵۰ d	۰/۰۹۱ c	۲۲/۲ d	۸/۰ d	۲/۷۹۹ c	۱۷۲/۷ e

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$).

جدول ۲- مقایسه میانگین میزان پرولین و قندهای محلول بخش هوایی و ریشه تحت تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی ناشی از PEG در شرایط آبکشت

پتانسیل (بار)	پرولین بخش هوایی (میکرومول بر گرم وزن تر بافت)	پرولین ریشه (میکرومول بر گرم وزن تر بافت)	نسبت پرولین بخش هوایی به ریشه	قندهای محلول بخش هوایی (گرم در ۱۰۰ گرم بافت خشک)	قندهای محلول ریشه (گرم در ۱۰۰ گرم بافت خشک)	نسبت قندهای محلول بخش هوایی به ریشه
صفر	۰/۱۱۰ e	۰/۰۸۰ d	۱/۳۸۶ a	۳/۵۹ e	۱/۵۷ d	۲/۲۹ a
-۱/۵	۰/۱۸۶ d	۰/۱۳۴ d	۱/۳۹۹ a	۴/۲۰ d	۱/۸۲ c	۲/۳۱ a
-۲	۰/۳۱۴ c	۰/۲۲۴ c	۱/۴۰۳ a	۴/۴۲ c	۱/۹۱ c	۲/۳۲ a
-۲/۵	۰/۴۴۵ b	۰/۳۱۳ b	۱/۴۲۲ a	۴/۷۴ d	۲/۰۳ c	۲/۳۳ a
-۳	۰/۶۶۸ a	۰/۴۷۰ a	۱/۴۳۸ a	۵/۱۳ a	۲/۱۹ a	۲/۳۵ a

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$).

منابع

- ۱- باهرنیک ز، میرزا م، عباس‌زاده ب. و نادری حاجی باقر کندی م. ۱۳۸۵. تاثیر تنش خشکی بر برخی فرآیندهای متابولیسمی گیاه *Parthenium argentatum* Gray. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۳: ۳۱۵-۳۲۲.
- ۲- حیدری شریف آباد ح. ۱۳۷۹. گیاه، خشکی و خشکسالی. چاپ اول. انتشارات موسسه تحقیقات و مراتع کشور.
- ۳- خالص‌رو ش. و آقاعلیخانی م. ۱۳۸۶. اثر تنش شوری و کم‌آبی بر جوانه‌زنی بذور سورگوم علوفه‌ای و ارزش مروری. مجله پژوهش و سازندگی. ۷۷: ۱۶۳-۱۵۳.
- ۴- رضازاده ز. و کوچکی ع. ۱۳۸۴. بررسی واکنش جوانه‌زنی بذر زنبان، رازیانه و شویب به پتانسیل‌های اسمزی و ماتریک ناشی از کلرید سدیم و پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ در دماهای مختلف. مجله پژوهش‌های زراعی ایران. ۳: ۲۱۷-۲۰۷.

- ۵- زینلی ا. و سلطانی ا. ۱۳۷۹. تاثیر تنش خشکی بر رشد هتروترونیکی گیاهچه گندم. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. ۷: ۱۲۳-۱۱۳.
- ۶- مرجانی ع.، فارسی م. و رحیمی زاده م. ۱۳۸۵. بررسی تحمل به خشکی ده ژنوتیپ نخود دیم در مرحله جوانه زنی با استفاده از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰. ویژه نامه علمی-پژوهشی علوم کشاورزی. ۱۲: ۲۹-۱۷.
- ۷- نوری ا. ۱۳۷۹. بررسی عکس العمل ژنوتیپ های نخود (*Cicer arietinum*) به تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ در مرحله جوانه زنی و گیاهچه ای. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد.
- 8- Arndt S.K.K., Clifford S.C., Wanek W., Jones H.G., and Popp M. 2001. Physiological and morphological adaptations of the fruit tree *Ziziphus rotundifolia* in response to Progressive drought stress. *Tree Physiology*, 21: 705-715.
- 9- Bartels D., and Sunkar R. 2005. Drought and salt tolerance in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24: 23-58.
- 10- Bates L.S., Waldren R.P., and Teare L.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-208
- 11- Begg J.E. 1980. Morphological adaptation of leaves to water stress. In: N C Turner and J P Kramer (Eds.), *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress*. pp. 33-42. John Wiley & Sons. New York. Chichester. Brisbane. Toronto.
- 12- Bhatt R.M., and Srinivasa Rao N.K. 2005. Influence of pod load on response of okra to water stress. *Indian J. Plant Physiol*, 10: 54-59.
- 13- Boydak M., Dirik H., Tilki F., and Calikoglu M. 2003. Effects of water stress on germination in six provenances of *Pinus brutia* seeds from different bioclimatic zones in Turkey. *Turk, J. Agric.* 27: 91-97.
- 14- Burslem D.F.R.P., Grubb P.J., and Turner I.M. 1996. Responses to simulated drought and elevated nutrient supply among shade-tolerant tree seedlings of low land tropical forest in Singapore. *Biotropica*, 28: 636-648.
- 15- Cabuslay G.S., Ito O., and Alejar A.A. 2002. Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to coater deficit. *Plant Science*, 163: 815-827.
- 16- De F., and Kar R.K. 1994. Seed germination and seedling growth of mung bean (*Vigna radiate*) under water stress induced by PEG-6000. *Seed Science and Technology*, 23: 301-304.
- 17- Dodd G.L., and Donovan L.A. 1999. Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of two cold desert shrubs. *Am. J. Bot.* 86: 1146-1153 .
- 18- Dubious M.K., Gilles A., Hamilton J.K., Roberts P.A., and Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related. *Annual Chemistry*. 28: 350-356 .
- 19- Heuer B. 1999. Osmoregulatory role of proline in plants exposed to environmental stresses. In: Pessaraki, M. (Ed.), *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker. New York. p. 675-695.
- 20- Ibrahim L. 1995. Effects of nitrogen supply, water stress and interaction between water and nitrogen on assimilate partitioning in poplar. Ph.D Thesis. University of Aberdeen. UK.
- 21- Jaleel C.A., Manivannan P., Wahid A., Farooq M., Jasim H., Somasundaram R., and Pannerselvam R. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture & Biology*, 11: 100-105.
- 22- Kaya M.D., Okcu G., Atak M., Cıkkılı Y., and Kolsarıcı O. 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Eur. J. Agron*, 24: 291-295.
- 23- Khurana E., and Singh J.S. 2000. Influence of seed size on seedling growth of *Albizia procera* under different soil water levels. *Annals of Botany*, 86: 1185-1192.
- 24- Macar T.K., Turan O., and Ekmekci Y. 2009. Effects of water deficit induced by PEG and NaCl on chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars and lines at early seedling stages. *G.U. Journal of Science*, 22: 5-14.
- 25- Mayer A.M., and Poljakoff-Mayber A. 1989. *The germination of seeds*. 4ed. Oxford : Pergamon Press.
- 26- Michel B.F., and Kaufmann M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiolo*, 57: 914-916.
- 27- Mir-hosseni-Dehabadi S.R. 1994. The effect of water relation carbon isotope discrimination and shoot and root growth of sainfoin (*Onobrychis visifolia* Scop) and Lucerne (*Medicago sativa* L.). Ph.D. Thesis. Massey University. Newzealand. pp. 364 .
- 28- Nilson E.T., and Orcutt D.M. 1996. *Physiology of plants under stress: abiotic factors*. John Wiley and Sons. New York. 689 p.
- 29- Oliveira-Neto C.F., Silva-Lobato A.K., Goncalves-Vidigal. M.C., Costa R.C.L., Santos.Filho B.G., Alves G.A.R., Silva-Maia W.J.M., Cruz F.J.R., Neres H.K.B., and Santos Lopes M.J. 2009. Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. *Science and Technology*, 7: 588-593.
- 30- Pagter M., Bragato C., and Brix H. 2005. Tolerance and physiological responses of *Phragmites australis* to water deficit. *Aquatic Botany*, 81: 285-299.
- 31- Rane J., Maheshwari M., and Nagarajan S. 2001. Effect of pre-anthesis water stress on growth, photosynthesis and yield of six wheat cultivars differing in drought tolerance. *Indian J. Plant Physiol*, 6: 53-60.

- 32- Slama I., Messedi D., Ghanaya T., Savoure A., and Abdelly C. 2005. Effects of water deficit on growth and proline metabolism in *Sesuvium portulacastrum*. Environmental and Experimental Botany, 56: 231-238.
- 33- Soltani A., and Galeshi S. 2002. Importance of rapid canopy closure for wheat production in a temperate sub-humid environment: experimentation and simulation. Field Crops Res, 77: 17-30.
- 34- Takel A. 2000. Seedling emergence and growth of sorghum genotypes under variable soil moisture deficit. Agronomy Journal, 48: 95-102.
- 35- Tobe K., Zhang L., Qiu G.Y., and Shimizu H. 2001. Characteristics of seed germination in five non-halophytic Chinese desert shrub species. Journal of Arid Environments, 47: 191-20126- Soltani A., and Galeshi S. 2002. Importance of rapid canopy closure for wheat production in a temperate sub-humid environment: experimentation and simulation. Field Crops Res, 77: 17-30.
- 36- Verslues P.E., Ober E.S., and Sharp R.E. 1998. Root growth and oxygen relations at low water potentials, Impact of oxygen availability in polyethylene glycol solutions. Plant Physiol, 116: 1403-1412.
- 37- Zeng Y.J., Wang Y.R., and Zhang J.M. 2010. Is reduced seed germination due to water limitation a special survival strategy used by xerophytes in arid dunes. Journal of Arid Environments, 74: 508-511.